

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
54894—  
2012

---

# ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

## Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2012

## Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

### Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии ОАО «Вимм-Билль-Данн»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 апреля 2012 г. № 50-ст

4 В настоящем стандарте учтены отдельные нормативные положения метода NMKL-135:1990 «Метод ферментативного определения сульфитов (общего диоксида серы)» (Скандинавский комитет по анализу пищевых продуктов) [NMKL-135:1990 «Sulphite. Enzymatic determination in foods» (Nordic Committee on Food Analysis — NMKL)]

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартиформ, 2012

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

## Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Fruit and vegetable products. Determination of total sulphur dioxide by enzymatic method

Дата введения — 2013—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки фруктов и овощей в части: фруктовые и овощные соки, нектары, морсы и сокосодержащие напитки, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее — соковая продукция), соковую продукцию из фруктов и овощей обогащенную и для детского питания, компоты, кисели, в т. ч. из сушеных фруктов (сухофруктов), джемы, повидло, варенья, сушеные фрукты, и устанавливает метод ферментативного определения массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы.

Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы от 10 до 500 мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>).

Пределы обнаружения для конкретных видов продуктов переработки фруктов и овощей приведены в таблице 3.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ Р 51940—2002 Соки фруктовые и овощные. Метод определения D-яблочной кислоты

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 52467—2005 Продукты переработки фруктов, овощей и грибов. Термины и определения

ГОСТ Р 53693—2009 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042-8-3, ИСО 4788 80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

- ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия  
ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия  
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры  
ГОСТ 26313—84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб  
ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний  
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

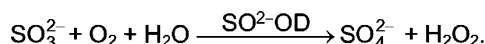
В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52467 и следующие термины с соответствующими определениями:

- 3.1 **сульфит ( $\text{SO}_3^{2-}$ )**: Связанная форма диоксида серы.  
3.2 **общий диоксид серы**: Сумма не связанного диоксида серы ( $\text{SO}_2$ ) и связанного диоксида серы (сульфита  $\text{SO}_3^{2-}$ ) в пересчете на  $\text{SO}_2$ .  
3.3 **НАД (NAD)**: Никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма.  
3.4 **НАДН (NADH)**: Никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма.  
3.5 **НАДН-пероксидаза (NADH-POD)**: Никотинамидадениндинуклеотид-пероксидаза.  
3.6 **Е (единица активности)**: Количество ферментов, которое является катализатором превращения (образования) 1 мкмоль вещества в минуту при температуре 25 °С.  
3.7 **аскорбатоксидаза**: Фермент, катализирующий реакцию окисления аскорбиновой кислоты кислородом.

### 4 Сущность метода

Метод определения общего диоксида серы в соковой продукции основан на проведении нижеприведенных ферментативных реакций:

сульфит в присутствии кислорода окисляется сульфитооксидазой ( $\text{SO}_2\text{-OD}$ ) до сульфата:



Пероксид водорода преобразуется под действием НАДН-пероксидазы (NADH-POD) при взаимодействии с никотинамидадениндинуклеотидом (NADH):



Массовая концентрация общего диоксида серы должна быть эквивалентной количеству израсходованного НАДН, что определяется по изменению оптической плотности, измеренной при длинах волн: 334, 340 или 365 нм.

### 5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

5.1 Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности при длине волны 340 нм или фотометр, оснащенный ртутной лампой, позволяющий проводить измерения при длинах волн 334 и 365 нм, с допустимой относительной погрешностью измерения коэффициента пропускания  $\pm 1\%$ .

- 5.2 Кюветы кварцевые или полимерные для спектрофотометрии с длиной оптического пути от 5 до 20 мм и вместимостью от 2 до 10 см<sup>3</sup>.
- 5.3 Натрия гидроксид по ГОСТ 4328, ч. д. а.
- 5.4 Гидрокарбонат натрия, NaHCO<sub>3</sub>, ч. д. а.
- 5.5 Натриевая соль никотинамидадениндинуклеотида, НАДН-Na<sub>2</sub>, ч.
- 5.6 НАДН-пероксидаза (NADH-POD), ч.
- 5.7 Сульфитоксидаза (SO<sub>2</sub>-OD), ч.
- 5.8 Сульфит натрия для приготовления стандартного раствора, ч. д. а.
- 5.9 Сульфат аммония, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ч. д. а.
- 5.10 Этилендиаминтетрауксусная кислота, ЭДТА, ч. д. а.
- 5.11 Триэталонамин марки А массовой долей основного вещества не менее 95 %, ч.
- 5.12 Комплект реагентов для ферментативного определения сульфита<sup>1)</sup>, включающий:
- реагент 1—30 см<sup>3</sup> триэтаноламинового буфера с кислотностью 8,0 ед. рН;
  - реагент 2—30 таблеток сухого препарата, каждая таблетка должна содержать по 0,4 мг НАДН;
  - реагент 3—0,3 см<sup>3</sup> суспензии НАДН-пероксидазы (NADH-POD) активностью 3 Е;
  - реагент 4—1,6 см<sup>3</sup> суспензии сульфитоксидазы (SO<sub>2</sub>-OD) активностью 2,5 Е.
- 5.13 Ионмер или рН-метр с погрешностью измерений не более ± 0,05 ед. рН.
- 5.14 Весы по ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность взвешивания с пределами допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 мг.
- 5.15 Измельчитель лабораторный (гомогенизатор) угловой скоростью вращения от 3000 до 5000 мин<sup>-1</sup>.
- 5.16 Пипетки градуированные 1-2-1-1, 1-2-1-2, 1-2-1-5, 1-2-1-10 и 1-2-1-25 по ГОСТ 29227 или дозаторы пипеточные с аналогичными или изменяемыми объемами доз с относительной погрешностью дозирования ± 1 %.
- 5.17 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770:
- цилиндры 1-50-2 и 1-1000-2,
  - колбы мерные с притертой пробкой 4-50-2, 4-100-2 и 4-1000-2,
  - пробирки стеклянные 1-10-0,1 ХС, 1-15-0,1 ХС и 1-20-0,1 ХС.
- 5.18 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336:
- воронки лабораторные,
  - стаканы вместимостью В-1-100 и В-2-1000.
- 5.19 Фильтры мембранные с размером диаметра пор 0,20 или 0,45 мкм и размером диаметра 13 и 47 мм для фильтрования проб.
- 5.20 Центрифуга лабораторная с величиной фактора разделения (g-фактор) не менее 1000.
- 5.21 Мешалка магнитная угловой скоростью вращения от 400 до 1200 мин<sup>-1</sup>.
- 5.22 Баня ультразвуковая.
- 5.23 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.
- 5.24 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 свежеприготовленная.
- 5.25 Шпатели пластиковые или палочки стеклянные оплавленные длиной от 2 до 5 см для перемешивания содержимого кюветы при проведении фотометрических измерений.
- 5.26 Гомогенизатор (миксер) лабораторный, обеспечивающий тонкое измельчение, в т. ч. сухофруктов до однородного состояния.
- 5.27 Аскорбатоксидаза (сухой лиофилизат/АО) массовой долей основного вещества не менее 95 %.
- 5.28 Поливинилпирролидон (Е1202) с массовой долей основного вещества не менее 95 %.
- 5.29 Термометр жидкостной стеклянный с диапазоном измерений от 0 °С до 100 °С, с ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498.
- 5.30 Электроплитка по ГОСТ 14919.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реагентов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Комплекты реагентов для определения общего диоксида серы фирм Roche Diagnostics и Megazyme обеспечивают требуемую эффективность метода. Данная информация не является рекламой указанных реагентов и не исключает возможность применения комплектов реагентов других фирм.

<sup>2)</sup> Допускается использовать как комплекты реагентов для ферментативного анализа сульфитов по 5.12, так и растворы реагентов, приготовленные в лабораторных условиях по 7.2.

## 6 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313.

## 7 Подготовка к проведению измерений

### 7.1 Предварительная подготовка растворов реактивов из набора реагентов

#### 7.1.1 Подготовка реактива 1 (триэтаноламиновый буфер)

Реагент 1 из набора реагентов по 5.12 применяют, как реактив, без разбавления. Перед проведением определения реагент 1 нагревают до температуры от 20 °С до 25 °С.

Срок хранения реактива 1 при температуре 4 °С — не более одного года.

#### 7.1.2 Подготовка реактива 2 (НАДН)

Для приготовления реактива 2 растворяют одну таблетку реагента 2 по 5.12 в 1 см<sup>3</sup> реактива 1.

Срок хранения реактива 2 при температуре 4 °С — не более 7 дней.

#### 7.1.3 Подготовка реактива 3 (НАДН-пероксидаза) и реактива 4 (сульфитоксидаза)

Реагенты 3 и 4 применяют, как реактивы, без разбавления.

Срок хранения реактивов 3 и 4 при температуре 4 °С — не более одного года.

#### 7.1.4 Стабильность реагентов

Все реагенты стабильны при температуре 4 °С в течение одного года.

### 7.2 Подготовка растворов реактивов в лабораторных условиях

#### 7.2.1 Приготовление буферного раствора триэтанолamina (0,60 моль/дм<sup>3</sup>, рН 8,0)

Растворяют 5,57 г триэтанолamina в 40 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в химическом стакане. Полученный раствор доводят до 8,0 ед. рН при помощи раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят его объем до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре 4 °С — не более 28 дней.

#### 7.2.2 Приготовление восстановленного никотинамидадениндинуклеотида, НАДН $7 \times 10^{-3}$ моль/дм<sup>3</sup>

В химическом стакане растворяют 25 мг препарата НАДН-Na<sub>2</sub> по 5.5 и 50 мг гидрокарбоната натрия (NaHCO<sub>3</sub>) по 5.4 в 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

Срок хранения раствора при температуре 4 °С — не более 28 дней.

#### 7.2.3 Приготовление суспензии НАДН-пероксидазы

Растворяют необходимое количество препарата НАДН-пероксидазы по 5.6 в растворе сульфата аммония молярной концентрацией 2 моль/дм<sup>3</sup> для получения суспензии с активностью 15 ед. фермента НАДН-пероксидазы в 1 см<sup>3</sup>.

Срок хранения суспензии при температуре 4 °С — не более одного года.

#### 7.2.4 Приготовление суспензии сульфит-оксидазы

Растворяют необходимое количество препарата сульфит-оксидазы по 5.7 в растворе сульфата аммония молярной концентрацией 2 моль/дм<sup>3</sup> для получения суспензии с активностью 2,5 ед. фермента НАДН-пероксидазы в 1 см<sup>3</sup>.

Срок хранения суспензии при температуре 4 °С — не более одного года.

#### 7.2.5 Приготовление раствора сульфата аммония (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup>

В мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> растворяют 264 г сухого сульфата аммония в 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. После полного растворения сульфата аммония доводят объем раствора в колбе дистиллированной водой до метки.

Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 25 °С — не более 28 дней.

#### 7.2.6 Подготовка стандартного раствора общего диоксида серы массовой концентрации 305 мг/дм<sup>3</sup>

600 мг сухого сульфита натрия и 37 мг ЭДТА, взвешенных с точностью до 0,1 мг, растворяют в дистиллированной воде. Количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup>. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Стандартный раствор применяют для контроля достоверности результатов измерений.

Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 25 °С — не более семи дней с момента изготовления.

### 7.3 Подготовка проб для измерений

#### 7.3.1 Соковая продукция

Подготовку проб соковой продукции для измерений проводят в соответствии с ГОСТ Р 53693 (подраздел 6.2). Если массовая концентрация природной или добавленной аскорбиновой кислоты в анализируемой соковой продукции превышает 100 мг/дм<sup>3</sup>, то осуществляют ее удаление из анализируемой пробы. Для этого в стеклянную пробирку объемом 10—15 см<sup>3</sup> отбирают 2,0 см<sup>3</sup> пробы, содержащей аскорбиновую кислоту, и корректируют кислотность до 5,0—6,0 ед. рН при помощи рН-метра раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup>. Затем в течение 10 мин при перемешивании шпателем пробу обрабатывают препаратом аскорбатоксидазы активностью 20 Е. После ферментативной обработки препаратом аскорбатоксидазы рН пробы доводят до 7,5—8,0 ед. рН раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup>. При этом фиксируют объем израсходованной гидроокиси натрия для расчета величины разбавления при подготовке рабочего раствора пробы по 7.3.4.

Для обесцвечивания окрашенной соковой продукции к пробе добавляют примерно 0,1 г поливинилпирролидона по 5.28, перемешивают ее в течение 1 мин, затем фильтруют.

#### 7.3.2 Джемы, повидло, варенья, кисели, компоты

В гомогенизаторе обрабатывают 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 50 см<sup>3</sup> помещают 5 г гомогенизированной пробы, добавляют около 40 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, закрывают мерную колбу и раствор инкубируют в течение 5 мин при температуре 60 °С и периодическом помешивании. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до метки, перемешивают и фильтруют. При массовой концентрации аскорбиновой кислоты в продукте более 100 мг/дм<sup>3</sup> проводят ее удаление из анализируемой пробы по 7.3.1.

#### 7.3.3 Сушеные фрукты (сухофрукты)

В гомогенизаторе обрабатывают 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 100 см<sup>3</sup> помещают 2 г измельченной и гомогенизированной фруктовой пробы. Добавляют 60 см<sup>3</sup> горячей дистиллированной воды (температура 65 °С). Закрывают мерную колбу и энергично встряхивают в течение 5 мин, выдерживают в течение 30 ч. Объем пробы в колбе доводят до метки дистиллированной водой, центрифугируют в течение 10 мин при частоте вращения ротора центрифуги 8000 мин<sup>-1</sup>, обеспечивающей фактор разделения не менее 1000g.

Для определения используют прозрачный фильтрат. При необходимости пробу разбавляют в соответствии с таблицей разбавлений по 7.3.4.

#### 7.3.4 Приготовление рабочего раствора пробы

Для обеспечения достоверности результатов определения общего диоксида серы в кювете спектрофотометра с анализируемой пробой должно находиться от 0,3 до 30,0 мг общего диоксида серы. Для достижения этого условия анализируемую пробу разбавляют дистиллированной водой с помощью мерных колб и пипеток подходящей вместимости в соответствии с таблицей 1 или в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для ферментативного анализа сульфитов.

Т а б л и ц а 1 — Разбавления пробы перед проведением измерений

Ожидаемая массовая концентрация общего диоксида серы в анализируемой пробе, г/дм <sup>3</sup>	Разбавление дистиллированной водой	Фактор разбавления (F)
< 0,3	Не разбавляется	1
0,3—3,0	1 + 9	10
3,0—30	1 + 99	100
> 30	1 + 999	1000

## 8 Проведение измерений ферментативным методом

### 8.1 Условия проведения измерений

Измерения проводят в следующих лабораторных условиях:

температура окружающего воздуха . . . . . (25 ± 5) °С;  
атмосферное давление . . . . . (97 ± 10) кПа;  
относительная влажность . . . . . (65 ± 15) %.

## 8.2 Анализ проб

В кювету спектрофотометра по 5.2 с длиной оптического пути 1 см приливают реактивы 2, 3 и 4, дистиллированную воду и анализируемую пробу в порядке и количествах, указанных в таблице 2. Для определения используют только свежеприготовленную дистиллированную воду.

Т а б л и ц а 2 — Порядок проведения анализа

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Кюветы	
	Стандартный раствор по 7.2.6 (контроль)	Проба
Реактив 2 по 7.1.2 или раствор по 7.2.2	1,00 см <sup>3</sup>	1,00 см <sup>3</sup>
Проба	—	0,10 см <sup>3</sup>
Вода дистиллированная	2,00 см <sup>3</sup>	1,90 см <sup>3</sup>
Реактив 3 по 7.1.3 или раствор по 7.2.3	0,01 см <sup>3</sup>	0,01 см <sup>3</sup>
Шпателем перемешивают помещенные в кюветы растворы, через 5 мин проводят измерения оптических плотностей растворов ( $A_1$ ) относительно оптической плотности воздуха.		
Реактив 4 по 7.1.3 или раствор по 7.2.4	0,05 см <sup>3</sup>	0,05 см <sup>3</sup>
<p>Осторожно перемешивают помещенные в кюветы растворы и проводят измерения оптических плотностей растворов (<math>A_2</math>) относительно оптической плотности воздуха. Измерения оптических плотностей растворов (<math>A_2</math>) повторяют через каждые 5 мин до окончания реакции (приблизительно через 30 мин), что выражается в установлении постоянного значения оптической плотности раствора.</p> <p>Если ферментативная реакция не закончилась через 30 мин и значения оптической плотности растворов увеличиваются с течением времени, то значения (<math>A_2</math>) определяют методом экстраполяции по ГОСТ Р 51940 (приложение А) на момент внесения реактива 3 по 7.1.3.</p> <p>При проведении серийных испытаний анализируемой соковой продукции используют только одну контрольную пробу.</p> <p>Пробы анализируют два раза в условиях повторяемости.</p>		

## 9 Обработка и оформление результатов определения

Измеряемой величиной является разность в оптической плотности растворов до и после обработки ферментом при длинах волн 334, 340 или 365 нм, которая пропорциональна массовой концентрации (массовой доле) общего диоксида серы в анализируемой пробе.

Разницу значений оптических плотностей  $\Delta A_{\text{SO}_2}$  рассчитывают как

$$\Delta A_{\text{SO}_2} = (A_1 - A_2)_{\text{проба}} - (A_1 - A_2)_{\text{контроль}}$$

где  $(A_1 - A_2)_{\text{контроль}}$  — разница оптических плотностей стандартного раствора;

$(A_1 - A_2)_{\text{проба}}$  — разница оптических плотностей анализируемой пробы.

Разница оптических плотностей  $\Delta A_{\text{SO}_2}$  должна находиться в интервале от 0,1 до 0,5 ед. оптической плотности (измерения при длине волны 365 нм) или от 0,1 до 0,8 ед. оптической плотности (измерения при длинах волн 334 и 340 нм). При превышении указанных значений разности оптических плотностей раствор анализируемой пробы дополнительно разбавляют дистиллированной водой. При меньшей разности оптических плотностей (менее 0,1) объем анализируемой пробы, дозируемый в кювету по 5.2, увеличивают, а объем дистиллированной воды соответственно уменьшают так, чтобы объем анализируемой пробы в кювете оставался постоянным в соответствии с таблицей 2.

Массовую концентрацию  $C_{\text{SO}_2}$  общего диоксида серы в анализируемой пробе, мг/дм<sup>3</sup>, рассчитывают по формуле

$$C_{\text{SO}_2} = \frac{V \cdot M \cdot \Delta A_{\text{SO}_2}}{\varepsilon \cdot d \cdot v}, \quad (1)$$

где  $V$  — окончательный объем растворов в кювете по таблице 2, см<sup>3</sup>;

$M$  — молекулярная масса диоксида серы,  $M = 64,06$  г/моль;



$\varepsilon$  — молярный коэффициент поглощения НАДФН, л · ммол<sup>-1</sup> · см<sup>-1</sup>:

- при длине волны 340 нм — 6,3,
- при длине волны 365 нм — 3,5 (ртутная лампа),
- при длине волны 334 нм — 6,18 (ртутная лампа);

$d$  — толщина поглощающего слоя в кювете, см;

$v$  — объем анализируемой пробы по таблице 2, см<sup>3</sup>;

$\Delta A_{\text{SO}_2}$  — разница оптических плотностей.

При проведении анализа по 8.2 при толщине поглощающего слоя в кювете 1 см и объеме анализируемой пробы 0,10 см<sup>3</sup> формула для расчета массовой концентрации общего диоксида серы  $C_{\text{SO}_2}$ , мг/дм<sup>3</sup>, преобразуется следующим образом:

$$C_{\text{SO}_2} = \frac{3,06 \cdot 64,06 \cdot \Delta A_{\text{SO}_2}}{\varepsilon \cdot 1,00 \cdot 0,10} = \frac{1960 \cdot \Delta A_{\text{SO}_2}}{\varepsilon}. \quad (2)$$

Если проба предварительно была разбавлена по 7.3.4, результат необходимо умножить на фактор разбавления  $F$ .

Массовую долю  $X_{\text{SO}_2}$  общего диоксида серы в пробе для твердых продуктов, млн<sup>-1</sup>, рассчитывают по формуле

$$X_{\text{SO}_2} = \frac{V_{\text{Mk}} \cdot C_{\text{SO}_2}}{m_{\text{нав}}}, \quad (3)$$

где  $V_{\text{Mk}}$  — объем мерной колбы, использовавшейся при подготовке пробы, см<sup>3</sup>;

$C_{\text{SO}_2}$  — массовая концентрация общего диоксида серы в растворе, полученного в мерной колбе в результате подготовки пробы по 7.3.3 и определяемой по формуле (1), мг/дм<sup>3</sup>;

$m_{\text{нав}}$  — масса анализируемой пробы, г.

Вычисления проводят до второго десятичного знака.

Расхождение результатов между двумя параллельными определениями, выполненными в условиях повторяемости, не должно превышать предела повторяемости (сходимости)  $r$ , приведенного в таблице 3, при вероятности  $P = 0,95$ .

При соблюдении этого условия за окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений  $X_{\text{ср}}$ , округленное до первого десятичного знака.

Границы абсолютной погрешности определения массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы  $\pm \Delta$ , мг/дм<sup>3</sup>, при соблюдении условий, регламентированных настоящим методом, при вероятности  $P = 0,95$  не должны превышать значения, приведенного в таблице 3.

Дополнительно, для контроля качества реактивов и работы фотометра, вместе с каждой серией испытуемых образцов проводят определение массовой концентрации общего диоксида серы в его стандартном растворе (СР) по 7.2.6.

Возможно использование коммерчески доступных СР содержания сульфита в дистиллированной воде, открытую емкость с СР необходимо использовать в течение рабочего дня. Отклонение измеренной величины массовой концентрации сульфита в стандартном растворе не должно превышать 5 % номинальной. В противном случае результаты измерения всей серии образцов признаются неудовлетворительными.

Т а б л и ц а 3 — Метрологические характеристики метода определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы при  $P = 0,95$

Наименование показателя	Значение показателя при диапазонах измерений массовой концентрации, мг/м <sup>3</sup> или массовой доли, млн <sup>-1</sup>
	От 10,0 до 500,0 включ.
Предел повторяемости (сходимости) $r$ , мг/дм <sup>3</sup>	3,60
Предел воспроизводимости $R$ , мг/дм <sup>3</sup>	5,40

Окончание таблицы 3

Наименование показателя	Значение показателя при диапазонах измерений массовой концентрации, мг/м <sup>3</sup> или массовой доли, млн <sup>-1</sup>
	От 10,0 до 500,0 включ.
Границы погрешности $\pm \Delta$ , мг/дм <sup>3</sup>	4,0
Предел обнаружения метода, мг/дм <sup>3</sup> (млн <sup>-1</sup> ): - для прозрачных неокрашенных соков, нектаров, напитков	10,0
- соков, нектаров, напитков с мякотью, компотов	20,0
- соков, нектаров, напитков, окрашенных в красные тона, джемов, повидла, варенья;	50,0
- фруктов сушеных (сухофруктов)	100,0

Окончательный результат определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы представляют в следующем виде:

$$X_{\text{ср}} \pm \Delta, \quad (4)$$

где  $X_{\text{ср}}$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

$\pm \Delta$  — границы абсолютной погрешности определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, приведенные в таблице 3, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

## 10 Контроль точности результатов определения

### 10.1 Контроль повторяемости результатов определения

Контроль повторяемости результатов определения массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы проводят при получении каждого результата определения путем сравнения расхождения между результатами двух параллельных определений с пределом повторяемости (сходимости), приведенным в таблице 3.

Повторяемость результатов признают удовлетворительной при условии

$$|X_1 - X_2| \leq r. \quad (5)$$

При превышении предела повторяемости (сходимости) определение повторяют. При повторном превышении указанного предела выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и их устраняют.

### 10.2 Контроль воспроизводимости результатов определения

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых определений, которые получены в условиях воспроизводимости (одна и та же методика, идентичный объект определения, разные лаборатории, разные операторы, различное оборудование), не должно превышать предела воспроизводимости, приведенного в таблице 3. При превышении указанного предела воспроизводимости поступают в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3).

### 10.3 Контроль погрешности (точности) результатов определения

Для проведения контроля погрешности определение проводят в пробах, объем или масса которых должны соответствовать удвоенному их количеству, необходимому для проведения определения. Пробу делят на две равные части. В одну из них добавляют стандартный раствор общего диоксида серы в таких объемах, чтобы добавка составляла от 50 % до 150 % исходного содержания компонента в пробе, но не превышала верхней границы диапазона определения массовой концентрации или массовой доли компонента с учетом границ погрешности определения (см. таблицу 3). В обеих частях пробы проводят определение в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

Результаты контрольных определений признают удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|X_{\text{доб}} - X_{\text{ср}} - c_{\text{доб}}| \leq K_{\text{доб}}, \quad (6)$$

где  $X_{\text{доб}}$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в анализируемой пробе с добавкой, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

$X_{\text{ср}}$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в пробе без внесения добавки, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

$c_{\text{доб}}$  — значение добавки общего диоксида серы, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

$K_{\text{доб}}$  — норматив контроля погрешности, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>).

При проведении внутрилабораторного контроля ( $P = 0,95$ ) значение  $K_{\text{доб}}$  рассчитывают по формуле

$$K_{\text{доб}} = 0,84 \sqrt{\Delta_{X_{\text{доб}}}^2 + \Delta_{X_{\text{ср}}}^2}. \quad (7)$$

При проведении внешнего контроля ( $P = 0,95$ ) значение  $K_{\text{доб}}$  рассчитывают по формуле:

$$K_{\text{доб}} = \sqrt{\Delta_{X_{\text{доб}}}^2 + \Delta_{X_{\text{ср}}}^2}, \quad (8)$$

где  $\Delta_{X_{\text{доб}}}^2$  и  $\Delta_{X_{\text{ср}}}^2$  — границы абсолютной погрешности определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы при анализе пробы с добавкой и при анализе пробы без внесения добавки, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>).

При превышении норматива контроля погрешности проводят повторные контрольные определения. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

## 11 Требования безопасности

### 11.1 Условия безопасного проведения работ

При работе с химическими реактивами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005 и ГОСТ 12.1.007. При подготовке проб к анализу и выполнении измерений с использованием спектрофотометра соблюдают правила пожаровзрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018, по электробезопасности — по ГОСТ Р 12.1.019 и инструкции по эксплуатации прибора.

### 11.2 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются инженер-химик, техник или лаборант, имеющие высшее или среднее специальное образование, опыт работы в химической лаборатории. Первое применение метода в лаборатории следует проводить под руководством специалиста, владеющего теорией и имеющего практические навыки в области ферментативных методов анализа.

Ключевые слова: соковая продукция, сульфиты, общий диоксид серы, термины и определения, ферментативный метод, массовая концентрация, массовая доля, проведение измерения, обработка и оформление результатов измерений, контроль точности результатов определения, требования безопасности

Редактор *М.Е. Никулина*  
Технический редактор *В.Н. Прусакова*  
Корректор *М.И. Першина*  
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 11.07.2012. Подписано в печать 13.08.2012. Формат 60x84<sup>1/8</sup>. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.  
Уч.-изд. л. 1,20. Тираж 201 экз. Зак. 695.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.

Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.